

Bakteri Tanah Sampah Pendegradasi Plastik dalam Kolom *Winogradsky*

Dewi Nur Ainiyah dan Maya Shovitri

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS)

Jl. Arief Rahman Hakim, Surabaya 60111 Indonesia

e-mail: maya@bio.its.ac.id

Abstrak— Penggunaan plastik berupa kantong kresek hasil daur ulang dengan berbagai warna sangat diminati oleh masyarakat. Sifat plastik yang tidak mudah terdegradasi di alam mengakibatkan masalah lingkungan. Penelitian ini dilakukan untuk mengisolasi dan mengkarakterisasi bakteri tanah sampah yang mampu mendegradasi plastik secara biokimia. Parameter biodegradasi plastik yang diukur adalah prosentase kehilangan berat kering, pengukuran densitas sel biofilm, densitas sel kolom air dan pH tiap bulan selama 4 bulan masa inkubasi. Dari penelitian didapatkan persentase kehilangan berat kering plastik hitam lebih tinggi daripada plastik putih bening. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa isolat bakteri tanah sampah pendegradasi plastik yaitu Gram positif basil (PPs 2, PPs 7, PPs 9, dan PPs 11) dan Gram negatif basil (PPs 1, PPs 4, PPs 5, PPs 6, PPs 8, PPs 10, PPs 12 dan PPs 13) dan hanya PPs 3 termasuk Gram negatif kokus.

Kata Kunci— Biodegradasi, Kantong kresek, Persentase kehilangan berat kering, dan Tanah Sampah.

I. PENDAHULUAN

PERKEMBANGAN ilmu pengetahuan dan teknologi, khususnya selama dua dekade terakhir, telah meningkatkan jumlah polimer sintetis yang diproduksi di seluruh dunia setiap tahun [1]. Salah satu polimer sintetis yang sering dikenal dengan polimer buatan adalah plastik [2]. Polimer ini telah menjadi primadona dalam kehidupan sehari-hari. Setiap tahunnya lebih dari 260 juta ton plastik yang diproduksi di berbagai negara [3]. Di Indonesia, penggunaan plastik semakin populer di kalangan masyarakat karena memiliki banyak kegunaan dan praktis. Menurut Budi S. Sadiman, Wakil Ketua Umum Asosiasi Olefin Aromatik dan Plastik Indonesia (Inaplas) [4] menyatakan bahwa konsumsi plastik di Indonesia diproyeksikan mencapai 1,9 juta ton hingga tahun 2013 dengan jumlah peningkatan sekitar 22,58 % dibandingkan tahun lalu sebanyak 1,55 juta ton.

Berdasarkan data Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) [5] bahan pengemas yang cukup dikenal dan paling banyak digunakan masyarakat karena harganya yang relative murah dan ringan adalah tas plastik atau masyarakat menyebutnya “kantong kresek”. Di samping itu, kantong kresek yang beredar di pasaran adalah tergolong plastik daur ulang yang ditambahkan zat pewarna berlebihan. Peningkatan konsumsi plastik tersebut berpeluang sebagai limbah dan dapat mencemari tanah. Sifat plastik yang tidak mudah didegradasi secara alami akibatnya akan terakumulasi di tempat pembuangan sampah dan tertimbun di dalam tanah [6]. Hal

tersebut akan mempengaruhi aktivitas biologi yang ada dalam tanah.

Menurut Lucas dkk., mikroorganisme seperti fungi dan bakteri termasuk komponen utama dari biosfer berperan dalam memecah senyawa organik dan siklus lingkungan [7]. Mikroorganisme sangat adaptif terhadap lingkungan dan mengeluarkan endoenzim dan eksoenzim yang mendegradasi substrat menjadi komponen yang lebih sederhana [8],[9]. Komponen tersebut dimanfaatkan sebagai sumber karbon dan energi oleh mikroorganisme [10]. Degradasi polimer tersebut akan membentuk formasi biofilm pada permukaan polimer. Proses tersebut dapat dikatakan proses biodegradasi yang merupakan salah satu upaya mengatasi limbah plastik secara biologi.

Beberapa penelitian sebelumnya telah membuktikan potensi bakteri indigenus dari tempat pembuangan sampah pendegradasi plastik adalah bakteri tanah *Acinetobacter* sp. mampu mendegradasi polietilen [11]. Genus *Brevibacillus*, *Pseudomonas* dan *Rhodococcus* spp. telah mampu mendegradasi polietilen melalui beberapa treatment dengan prosentase berat kering sebesar 37,5%, 40,5% dan [12]. Ditemukannya dua konsorsium mikroorganisme dari genus *Sphingomonas* dan *Pseudomonas* yang mampu mendegradasi polietilen dengan tingkat degradasi tinggi hingga 42,8% penurunan berat kering [13].

Salah satu metode yang dapat dilakukan untuk mendeteksi proses biodegradasi plastik yaitu dengan metode Kolom *Winogradsky*. Metode kolom tersebut tergolong metode pengayaan yang menunjukkan keberadaan mikroorganisme pada kondisi lingkungan yang kurang mendukung. Metode ini mendukung suatu konsorsium. Konsorsium mikroorganisme mengontrol laju reaksi redoks dan memodifikasi lingkungan membentuk biofilm [14]. Permasalahan dalam penelitian ini adalah genus bakteri tanah sampah apa sajakah yang mampu mendegradasi plastik.

Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengisolasi dan mengkarakterisasi bakteri tanah sampah yang mampu mendegradasi plastik dengan metode Kolom *Winogradsky*.

II. METODOLOGI

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Maret – Juni 2014 di Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Jurusan Biologi FMIPA-ITS.

B. Pengambilan Sampel Tanah

Sampel tanah diambil dari lahan timbunan sampah dengan metode komposit pola zigzag sebanyak 5 titik [15]. Masing-masing sampel tanah dari kelima titik diaduk secara merata pada *polybag* steril. Sampel tanah diambil sebanyak 750 g dengan menggunakan sekop dan dimasukkan ke dalam *ziplock*. Semua alat yang digunakan telah disterilisasi terlebih dahulu. Kemudian sampel tersebut diletakkan dalam *ice box* berisi *dry ices* untuk diperlakukan dalam laboratorium. Faktor lingkungan seperti suhu dan pH tanah diukur secara *in situ*.

C. Persiapan Kantong Plastik

Plastik yang digunakan berupa kantong “kresek” bening yang dipotong dengan ukuran 15×4 cm sebanyak 3 kali ulangan, kemudian disterilisasi dengan menggunakan alkohol 70 % selama kurang lebih 30 menit [16] dan dikeringanginkan dengan sinar UV pada *Laminar Air Flow* selama 30 menit. Untuk mengetahui berat kering awal plastik, potongan tersebut dikeringkan dengan oven pada suhu 800°C selama 24 jam. Potongan plastik ditimbang menggunakan neraca *analytical balance* dalam kondisi steril sebagai berat kering awal. Supaya dapat dibedakan, masing-masing potongan plastik diberi tanda.

D. Biodegradasi

Proses degradasi ini menggunakan metode *Winogradsky Column* dengan botol air mineral steril volume 1,5 L yang berjumlah 3 botol (bagian leher botol terpotong). Masing-masing botol tersebut diisi dengan 750 g sampel tanah yang telah diambil sebelumnya sebanyak 3 kali ulangan. Pada lapisan kedua ditambahkan *Mineral Salt Medium* (MSM) atau media minimal steril sebanyak 750 ml. Kemudian dimasukkan potongan plastik dengan pisau steril hingga tercelup pada substrat tanah sepenuhnya. Setelah itu ditutup dengan bagian leher botol yang telah dipotong dan direkatkan dengan *wrap* atau selotip. Proses degradasi menggunakan metode ini dilakukan selama 4 bulan dan dihitung berat kering plastik tiap 4 minggu.

E. Isolasi bakteri pendegradasi plastik dan uji Total Plate Count (TPC)

Isolasi bakteri pendegradasi plastik dilakukan dengan metode serial dilution dan dilanjutkan metode *spread plate*. Setelah 4 bulan, potongan plastik diambil dari *Winogradsky Column* dengan menggunakan pinset secara aseptis. Untuk memisahkan biofilm pada plastik, potongan tersebut dimasukkan kedalam botol falkon berisi 13 ml aquades steril dan divortex dengan kecepatan 2000 rpm selama 30 detik tiap 5 kali [17]. Setelah itu, potongan plastik dipisahkan untuk menghitung persentase berat keringnya. Biofilm yang sudah terpisah divortex selama 2 menit hingga homogen. Kemudian inokulum yang sudah homogen diambil sebanyak 100 µl dengan menggunakan *micropipette* dan dipindahkan ke dalam

tabung pertama yang berisi 9,9 ml akuades steril serta dihomogenkan. Tabung tersebut disebut pengenceran 10-2. Tahap selanjutnya, dari pengenceran 10-2 diambil sebanyak 100 µl dan dipindahkan ke tabung kedua yang berisi 9,9 ml akuades steril serta dihomogenkan kembali. Tabung tersebut disebut pengenceran 10-4. Pengenceran terus dilakukan hingga didapatkan pengenceran 10-8, masing-masing dilakukan 3 kali ulangan. Sementara itu, Medium kultivasi yaitu media *Nutrient Agar* (NA) (Oxoid, Inggris) dituang ke dalam cawan *Petridish* dan dibiarkan hingga dingin. Kemudian inokulum ditambahkan pada permukaan cawan. Setelah itu, inokulum diratakan dengan *Drigalski* dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam.

F. Persentase Kehilangan Berat Plastik

Pengukuran kehilangan berat plastik dilakukan dengan cara menghitung selisih berat potongan plastik sebelum didegradasi dan setelah proses degradasi. Potongan plastik yang sudah terpisah dengan biofilm disterilisasi dengan alkohol 70% dan dikeringanginkan. Setelah kering, potongan plastik dimasukkan kedalam oven pada suhu 800°C selama 24 jam. Potongan plastik yang telah dioven dimasukkan ke dalam *dessicator* selama 24 jam dan ditimbang berat keringnya. Berikut rumus perhitungan persentase kehilangan berat plastik [18]

$$\text{kehilangan berat} = \frac{W_i - W_f}{W_i} \times 100 \% \quad (1)$$

Keterangan:

W_i = Berat kering awal sebelum degradasi (gram)

W_f = Berat kering akhir setelah degradasi (gram)

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Biodegradasi

Uji biodegradasi plastik yang digunakan dalam penelitian adalah metode Kolom *Winogradsky*. Kolom ini merupakan miniatur kolom buatan yang berisi tanah atau sedimen [19], yang dapat menjadi salah satu metode pengayaan kultur yang menunjukkan ekologi mikroorganisme pada suatu ekosistem serta stratifikasi donor elektron masing-masing lapisan [17]. Pada kolom tersebut diisi tanah sampah dari Tempat Pembuangan Sampah di Daerah Bulak Banteng Surabaya sebagai inokulum dan *Mineral Salt Medium* (MSM) dengan rasio 1:1 (Gambar 1). MSM adalah medium mineral minim sumber karbon. Sebagai sumber karbon dalam penelitian ini adalah plastik putih bening yang dibenamkan dalam tanah sampah.

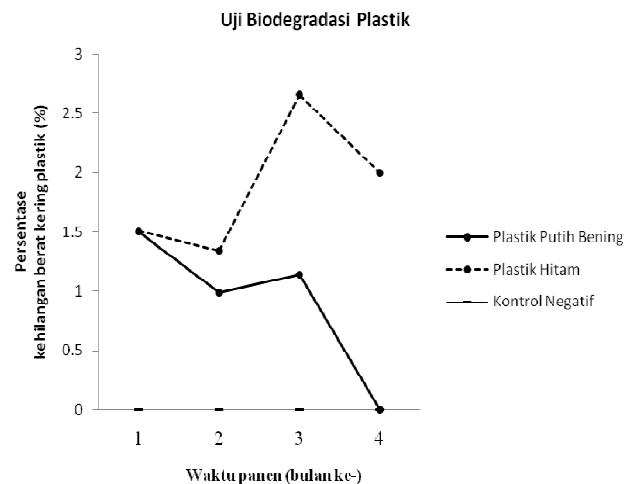


Gambar 1. Uji Biodegradasi dengan Metode Kolom *Winogradsky*. Keterangan: a. MSM (750 ml). b. Potongan plastik putih bening ukuran 15×4 cm (15 lembar/ botol). c. Tanah sampah sebagai inokulum (750 gr).

Plastik yang merupakan polimer rantai panjang dan berulang sulit untuk didegradasi. Menurut Lucas, dkk., mikroorganisme berperan dalam degradasi biologis suatu polimer [7]. Komponen molekul kompleks tersebut dipecah menjadi komponen yang lebih sederhana akan digunakan dalam metabolisme menghasilkan sumber energi. Sumber karbon yang tersedia tidak secara umum inilah diharapkan dapat dimanfaatkan oleh mikroorganisme dalam kondisi terbatas.

Terkait hal tersebut, metode Kolom *Winogradsky* diharapkan dapat mengoptimalkan biodegradasi. Menurut Rogan, dkk., sistem pengayaan ini akan membentuk formasi pertumbuhan mikroorganisme dengan kemampuan berbeda dalam menggunakan sumber karbon sederhana sebagai sumber energi [19].

Berdasarkan Gambar 2, plastik putih bening menunjukkan adanya proses degradasi yaitu terjadi kehilangan berat kering. Rata-rata kehilangan berat kering yang terjadi adalah 1% per bulan. Namun pada panen 3, kehilangan berat kering yang terjadi mengalami penurunan. Dari kehilangan berat kering sekitar 1,14% turun hingga 0% pada panen 4. Hal ini dapat diasumsikan bahwa ada mikroorganisme di tanah sampah yang mampu mendegradasi plastik putih bening.



Gambar 2. Uji Biodegradasi Selama 4 Bulan Masa Inkubasi.

B. Isolasi Bakteri Tanah Sampah Pendegradasi Plastik

Berdasarkan hasil isolasi dan purifikasi didapatkan 13 isolat dengan karakter koloni yang berbeda berdasarkan bentuk koloni, tepi dan elevasi [20]. Koloni isolat bakteri sebagian besar berbentuk irregular dan circular (Tabel 1).

Tabel 1.
Karakter Makroskopis dan Mikroskopis Koloni Bakteri Tanah Sampah Pendegradasi Plastik

Kode Isolat	Bentuk	Tepi	Elevasi	Warna	Gram (+)		Gram (-)	
					Basil	Kokus	Basil	Kokus
PPs 1	Circular	Entire	Flat	Krem			x	
PPs 2	Irregular	Undulate	Flat	Krem	x			
PPs 3	Circular	Entire	Convex	Krem				x
PPs 4	Circular	Entire	Raised	Krem			x	
PPs 5	Irregular	Curled	Umbonate	Putih			x	
PPs 6	Irregular	Undulate	Umbonate	Putih			x	
PPs 7	Irregular	Undulate	Flat	Krem	x			
PPs 8	Irregular	Curled	Flat	Putih			x	
PPs 9	Irregular	Undulate	Flat	Putih susu	x			
PPs 10	Irregular	Entire	Flat	Krem			x	
PPs 11	Irregular	Undulate	Flat	Krem	x			
PPs 12	Circular	Undulate	Flat	Putih bening			x	
PPs 13	Circular	Undulate	Flat	Kuning			x	

Isolat yang ditemukan kemudian diamati karakter mikroskopis melalui pewarnaan Gram dan diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 1000x. Gram positif ditandai dengan terbentuknya ungu pada sel bakteri sedangkan Gram negatif ditandai dengan warna merah muda sampai merah [20]. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa isolat bakteri tanah sampah pendegradasi plastik yaitu PPs 2, PPs 7, PPs 9, dan PPs 11 termasuk Gram positif basil. Sedangkan PPs 1, PPs 4, PPs 5, PPs 6, PPs 8, PPs 10, PPs 12 dan PPs 13 termasuk Gram negatif basil dan hanya PPs 3 termasuk Gram negatif kokus.

IV. KESIMPULAN

Inokulum mikroorganisme yang ada di tanah sampah mampu mendegradasi plastik dengan prosentase kehilangan berat kering plastik putih bening rata-rata per bulan sebesar 1% dan hitam sebesar 1,87%. Inokulum mikroorganisme yang ada di tanah sampah diisolasi dan dikarakterisasi secara biokimia diperoleh 13 isolat bakteri tanah sampah yang mampu mendegradasi plastik.

UCAPAN TERIMA KASIH

D.N. Ainiyah mengucapkan terima kasih kepada Dr.Nurul Jadid, M.Sc dan Dr. Enny Zulaika MP, atas kritik, saran dan masukannya demi kesempurnaan tugas akhir ini. Penulis juga mengucapkan terima kasih dan penghargaan yang tinggi kepada ayahanda dan ibunda, adik-adik serta keluarga atas doa dan kasih sayangnya. Penelitian ini juga tidak lepas dari bantuan dan dukungan teman-teman seperjuangan angkatan 2010, dan seluruh pihak yang tidak dapat saya sebut satu persatu.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Shimao M. 2001. "Biodegradation of plastics". *Current Opinion Biotechnology* 12:242-247.
- [2] Scott G. 1999. *Polymers in modern life*. In: *Polymers and the Environment*. UK: Royal Society of Chemistry.
- [3] O'Brine T, Thompson RC. 2010. "Degradation of plastic carrier bags in the marine environment", *Marine Pollution Bulletin* 60: 2279-2283.
- [4] Anonim¹. 2013. Ketua Asosiasi Olefin Aromatik (Inaplas). *Ranah Berita (Jakarta)*, 11 Maret.
- [5] Anonim². 2013. Hentikan Bungkus Makanan dengan Kantong Plastik Hitam. *Ranah Berita (Jakarta)*, 15 Maret..
- [6] Thompson, R.C., Swan, S.H. Moore, C.J. dan vom Saal, F. 2009. "Our plastic age", *Philosophical Transactions of the Royal Society Biological Sciences* 364: 1973-1976..
- [7] Lucas, N., Bienaime, Ch., Belloy, Ch., Queneudec, M., Silvestre, F., Nava-Saucedo, J.E., 2008. "Polymer biodegradation: mechanisms and estimation techniques: review", *Chemosphere* 73: 429-442.
- [8] Albinas L, Loreta L, Dalia P. 2003. "Micromycetes as deterioration agents of polymeric materials", *International Biodeterioration & Biodegradation* 52: 233-242.
- [9] Huang JC, Shetty AS, Wang MS. 1990. "Biodegradable plastics: A review.", *Advances in Polymer Technology* 10:23-30.
- [10] Gu JD. 2003. "Microbial deterioration and degradation of synthetic polymeric materials: recent reserach advances", *International Biodeterioration Biodegradation* 52: 69-91.
- [11] Zufahair, Puji Lestari, Dian Riana Ningsih, Senny Widyaningsih. 2007. "Biodegradasi Polietilena Menggunakan Bakteri Dari Tpa (Tempat Pembuangan Akhir) Gunung Tugel Kabupaten Banyumas" Skripsi. Program Studi Kimia Jurusan MIPA. Purwokerto: Universitas Soedirman..
- [12] Nanda, S & Smiti Sbigdha Sahu. 2010. Biodegradability of polyethylene by *Brevibacillus*, *Pseudomonas*, and *Rhodococcus* spp. *New York Science Journal* 3: 95-98.
- [13] wwsef.uwaterloo.ca
- [14] Joel F.R. 1995. *Polymer science and technology: introduction to polymer science. 3 edn*. Prentice-Hall: Upper Saddle River.
- [15] R. Saraswati, E. Husen, dan R.D.M. Simanungkalit, "Metode Analisis Biologi Tanah", *Jawa Barat : Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Sumber Daya Lahan Pertanian (2007)* ch 2.
- [16] Mueller, R.J., 2001. "Biological degradation of synthetic polyesters—enzymes as potential catalysts for polyester recycling.", *Process Biochemistry* 41:2124–2128.
- [17] Madigan, M.T., J. Martinko dan J Parker. 2012. *Brock biology of microorganism. 13 th ed*. San Fransisco: Benjamin Cummings.
- [18] Rohaeti, Eli. 2002. *Karakterisasi Biodegradasi Polimer*. Jurdik Kimia FMIPA UNY: Yogyakarta.
- [19] Rogan, Brian, Michael L, Michael L. 2005. "Exploring the Sulfur Nutrient Cycle", *The American Biology Teacher*. Volume 67: 6. New York : Pace University.
- [20] Harley, E.J.,J. M Presscot. 2002. *Laboratory exercises in microbiology 5 th ed*. New York: Mc Graw Hill Company.